

令和元年6月18日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04112

研究課題名（和文）化学合成を基盤としたマイトトキシンの生物活性発現機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of mode-of-action of maitotoxin based on chemical synthesis

研究代表者

大石 徹 (Oishi, Tohru)

九州大学・理学研究院・教授

研究者番号：90241520

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：マイトトキシン（MTX）は、食中毒シガテラの原因物質のひとつであり、強力な細胞内へのCa²⁺流入活性を有する。本研究では、MTXの部分構造を基に、簡略化された人工アナログ分子を合成することで、Ca²⁺流入活性を阻害する物質の創製に取り組んだ。そこで、分子量が1000を超え、MTXの疎水性部分に相当する部分構造を設計した。本研究者が開発した梯子状ポリエーテルの合成に有用な二環構築型収束的合成法を応用し、MTXのC'D'E'F'環部とWXYZ環部から、WXYZA'B'C'E'D'F'環部骨格の構築に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マイトトキシン（MTX）は、食中毒シガテラの原因物質のひとつであり、強力な細胞内へのCa²⁺流入活性を有する。本申請者は、MTXのように分子量が3000を超える巨大な分子の場合、「生物活性の発現には全構造が必須なのではなく、重要な部分構造が存在する」という仮説を立てた。これまでに様々なMTXの部分構造を合成し、特に疎水性の部分構造がMTXによって引き起こされるCa²⁺流入活性をより強く阻害することを明らかにした点は、学術的に意義がある。これらの阻害剤の探索は、食中毒シガテラの治療法や予防法の開発に繋がると考えられるため、社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：Maitotoxin (MTX) is one of the causative toxins of ciguatera seafood poisoning, and it elicits potent calcium ion influx activity in cells. In this study, development of an inhibitor against the calcium ion influx activity by synthesizing a simplified artificial analog based on the partial structure of MTX. For this purpose, a partial structure corresponding to the hydrophobic part of MTX whose molecular weight exceeds 1000 was designed. The WXYZA'B'C'E'D'F' ring system of MTX was constructed from the WXYZ and C'D'E'F' rings by using the convergent method via two-rings construction useful for synthesizing ladder-shaped polyethers developed in our laboratory.

研究分野：天然物化学

キーワード：マイトトキシン 梯子状ポリエーテル カルシウムイオン流入活性 化学合成 生物活性発現機構

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マイトキシシン (MTX) は、年間 5 万人以上の中毒患者が発生する世界最大規模の魚介類による食中毒「シガテラ」の原因物質のひとつであり、二次代謝産物の中では最強の毒性 (マウス腹腔内投与 $LD_{50} = 50 \text{ ng/kg}$) を有する (T. Yasumoto, *et al. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **1977**, *43*, 1021.)。MTX は、32 個のエーテル環と 98 個の不斉中心を有する分子量 3422 の巨大分子であり (M. Murata, *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7098.)、極性官能基であるヒドロキシ基や硫酸エステルが多く存在する親水性部分 (下半分) と、それ以外の疎水性部分 (上半分) の大きく 2 つの部分に分けられる (図 1)。MTX は、極微量で細胞内への Ca^{2+} 流入を引き起こすため (K. Konoki, *et al. J. Neurochem.* **1998**, *70*, 409.)、生理学的研究用試薬として広く用いられてきた。食中毒の予防や治療法の開発を行う上でも、分子レベルでの活性発現機構の解明が重要であるが、発見以来 40 年近く経過した現在でも未解明のままである。作用標的分子に関しても、 Ca^{2+} の流入を引き起こすことから、 Ca^{2+} チャンネルなどの膜タンパク質であると推測されているに過ぎない。MTX に関する生物有機化学的な研究が立ち遅れている主な理由として、1) 天然から得られるサンプルが極微量であること、2) 巨大な分子であるために非特異的吸着が強く、標的タンパク質を特定できていないこと、が挙げられる。梯子状ポリエーテル天然物の中で作用標的分子が明らかになっているものとして、シガテラ食中毒の原因毒であるシガトキシシン CTX3C や赤潮の原因毒ブレベトキシシン B が知られており、電位依存性 Na^{+} チャンネル (膜タンパク質) に特異的に結合する。これらの分子は疎水性であるため、疎水性の高い膜タンパク質と強く相互作用すると考えられている。MTX 分子の上半分は疎水性部分であるため、作用標的分子 (膜タンパク質) との相互作用に深く関わっていると予想される。

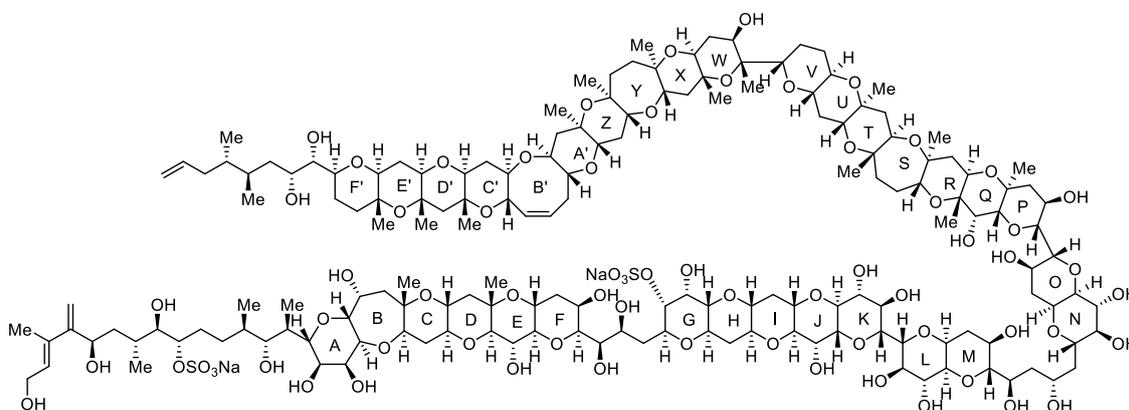


図 1

2. 研究の目的

本申請者は、過去の研究において以下のような作業仮説を立てて実験を行ってきた。すなわち MTX が作用標的膜タンパク質と結合する場合、疎水性部分が膜に挿入し、膜貫通 α -ヘリックスと相互作用すると想定される。そのため、MTX の疎水性部を有する人工分子 (部分構造の合成品) を添加すれば、MTX との競合的な結合が起こり、 Ca^{2+} 流入活性が阻害されると予想した。そこで、MTX の疎水性部分を有する分子として C'-F'環部、W-C'環部、Q-S 環部を設計・合成し、生物活性を評価した結果、MTX によって引き起こされる Ca^{2+} 流入活性を IC_{50} 値 $30 \sim 59 \mu\text{M}$ で阻害することを見出した (T. Oishi, *et al. Org. Lett.* **2008**, *10*, 3599.; *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 4948.; *Chem. Lett.* **2014**, *43*, 1904.)。上記の作業仮説を裏付ける結果であるが、これらの分子は数十 μM 程度の阻害活性しか示さなかった。その理由として、これらの化合物の分子長が比較的短いため、作用標的タンパク質と強く結合するために必要な分子間相互作用を誘導するには不十分であることが考えられる。そこで、より強い分子間相互作用を実現させるため、分子全体の大きさの 3 分の 1 程度、すなわち分子量が 1000 程度のより大きな MTX の疎水性部分構造を設計・合成することを計画した。また、これまで主に疎水性部分にのみ着目して研究を行ってきたが、MTX には親水性部分も存在することが他の梯子状ポリエーテルには見られない構造上の大きな特徴であるため、MTX の生物活性である Ca^{2+} 流入活性を発現するためには、親水性部分が大きな役割を果たしていることも考えられる。そこで、分子量が 1000 程度の親水性部分を持つ分子を設計・合成することを計画した。

3. 研究の方法

MTX の部分構造として、分子全体の約 3 分の 1 の大きさを持つ部分、すなわち疎水性部分のみからなる部分構造：W-F 環部、および親水性部分のみからなる部分構造：A-F 環部を設計した。また、MTX には疎水性部分と親水性部分が存在することが他の梯子状ポリエーテルには見られない構造上の大きな特徴であるため、MTX の生物活性である Ca^{2+} 流入活性を発現するためには、疎水性部分と親水性部分の両方を併せ持つことが重要である可能性もある。そこで、分子中央部分に相当する疎水性部分と親水性部分を併せ持つ部分構造：G-U 環部を設計した。これらの部分構造を合成した後、生物活性を評価することにした。

4. 研究成果

平成 28 年度は、MTX の部分構造として、疎水性部分である C'D'E'環部、および親水性部分である LM/NO 環部、BCD 環部、DEF 環部の合成を検討した。C'D'E'環部：C'D'E'環部は核間メチル基が連続しているため、収束的に合成することが困難であるため、これまで C'D'E'環部の合成には 20 段階以上を要していた。そこで、より短段階で合成するルートを検討した。アルデヒドとフリルリチウムのカップリング反応、生じたヒドロキシ基のラジカル脱酸素化反応を経由することで、立体障害の大きな系でのフラグメントの連結に成功した。さらに、当研究室で開発した Achmatowicz 反応および化学選択的メチル化を利用したエノンの構築に成功した。鍵反応である分子内オキサ Michael 反応を利用した D'環部の構築を検討中である。LM/NO 環部：これまで LM 環部の合成には 20 段階以上を要していたが、僅か 12 段階で合成できるルートの開発に成功した。また、C-グリコシル化によるアリル基導入が問題となっていたが、マイクロフローリアクターを用いることで解決することができた。BCD 環部：Achmatowicz 反応を利用することで、B 環部および D 環部を構築することに成功した。鍵反応である分子内オキサ Michael 反応を利用した C 環部の構築を検討中である。DEF 環部：鈴木-宮浦カップリング反応によるフラグメントの連結、続く不斉ジヒドロキシ化反応、Achmatowicz 反応、および還元的エーテル化反応を経由してエノンの構築に成功した。

平成 29 年度は、MTX の疎水性部分である W-F'環部の合成を検討した。W-F'環部の合成：本申請者が開発した α -シアノエーテルを経由する二環構築型収束的合成法 (α -シアノエーテル法) を応用した。すなわち、W-Z 環部と C'-F'環部をアセタール化により連結し、位置選択的アセタールの開裂による α -シアノエーテルへの変換、および閉環メタセシス反応により B'環部を構築した。A'環部の構築には大きな困難を伴ったが、混合チオアセタールに変換後、ラジカル条件での還元を行うことで、W-F'環部の基本骨格の合成に成功した。WXYZ 環部の合成： α -シアノエーテル法による WXYZ 環部の合成に成功しているが、大量合成に向けてより効率的な合成法の開発を検討した。すなわち、アルキンを有するテトラヒドロピラン環 (THP 環) とアルデヒドを有する THP 環に対して、ブチルリチウムを用いてカップリングさせた後、生じたプロパルギルアルコールの還元-酸化、ヒドロキシケトンの脱水環化、ヒドロホウ素化-酸化、六員環ケトンから七員環ケトンへの環拡大反応、混合チオアセタール化、およびメチル化を経由して、WXYZ 環部を収束的に合成することに成功した。C'D'E'環部の合成：C'D'E'環部の合成には 20 段階以上を要していたため、より短段階で合成するルートを検討した。アルデヒドとフリルリチウムのカップリング反応、生じたヒドロキシ基のラジカル脱酸素化反応を経由することでフラグメントの連結を行い、当研究室で開発した Achmatowicz 反応および化学選択的メチル化を利用したエノンの構築に成功した。鍵反応である分子内オキサ Michael 反応を利用した D'環部の構築を検討したが、望まない立体化学を有するジアステレオマーを与えるという興味深い結果が得られた。分子内オキサ Michael 反応が、基質の構造に大きく影響されることを見出した。

平成 30 年度は、MTX の親水性部分である G-M 環部、および A-F 環部セグメントの合成を検討した。G-M 環部の合成：G-M 環部は、GHIJ 環部と LM 環部を連結しつつ K 環部を構築することで収束的に合成できると考えた。LM 環部の合成は既に完了しているが、いくつか問題のある点が残されていたため、改良を検討した。すなわち、エノンの不斉還元が続いて分子内オキサ Michael 反応を経由するルートを確認することができた。GHI 環部については、既に当研究室で合成法が確立している QRS 環部の合成法を応用することにした。すなわち、フラン誘導体と末端オレフィンとの藤原-守谷反応、Achmatowicz 反応、還元的エーテル化、およびジアステレオ選択的ジヒドロキシ化を経由して GHI 環部を合成することに成功した。A-F 環部の合成：A-F 環部は、側鎖を含む A 環部と DEF 環部を連結しつつ BC 環部を構築することで収束的に合成できると考えた。DEF 環部は、フラン誘導体と末端オレフィンとの藤原-守谷反応、Achmatowicz 反応、位置および立体選択的なボリル化-酸化、還元的エーテル化、および Barton-McCombie 脱酸素化を経由して合成することに成功した。また、A 環部を構築しつつ、B 環と側鎖を連結する方法の開発にも成功した。すなわち、末端アルキンを有する B 環と側鎖部分のアルデヒドをカップリングした後、部分還元、ジアステレオ選択的ジヒドロキシ化、および還元的エーテル化を経由して合成した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 3 件）

1. Synthesis of 6/6/6-Tetracyclic Ethers via Achmatowicz and Intramolecular Oxa-Michael Reactions. Hiroki Yamamoto, Kohei Torikai, Makoto Ebine, Tohru Oishi, *Heterocycles* **2018**, 97, 158–162. DOI: 10.3987/COM-17-S(T)10. 査読有
2. Convergent Syntheses of the WXYZ Ring of Maitotoxin and the HIJK Ring of Brevisulcinal-F. Naoya Osato, Hisaaki Onoue, Yoshiki Toma, Kohei Torikai, Makoto Ebine, Masayuki Satake, Tohru Oishi, *Chem. Lett.* **2018**, 47, 265–268. DOI:10.1246/cl.171056. 査読有
3. Syntheses and Biological Activities of the LMNO, *ent*-LMNO, and NOPQR(S) Ring Systems of Maitotoxin. Hisaaki Onoue, Riho Marubayashi, Erina Ishikawa, Keiichi Konoki, Kohei Torikai, Makoto Ebine, Michio Murata, and Tohru Oishi, *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 9595–9618. DOI: 10.1021/acs.joc.7b01658. 査読有

〔学会発表〕（計 26 件）

2018 年度

1. 安富 貴也, 薬師寺 宏幸, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
マイトトキシンの DEF 環部の合成研究
創薬懇話会 2018 in 志賀島
2. 安富 貴也, 薬師寺 宏幸, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
マイトトキシンの DEF 環部の合成研究
第 55 回化学関連支部合同九州大会
3. 吉村 庄太郎, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
マイトトキシンの AB 環部の合成研究
第 55 回化学関連支部合同九州大会
4. 安富 貴也, 薬師寺 宏幸, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
マイトトキシンの DEF 環部の合成研究
第 8 回 CSJ フェスタ 2018
5. Tohru Oishi
Structure-Activity Relationship Studies of Maitotoxin Based on the Chemical Synthesis of Partial Structures
The 14th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-14)
6. 吉村 庄太郎, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
マイトトキシンの AB 環部の合成研究
日本化学会第 99 春季年会
7. 安富 貴也, 薬師寺 宏幸, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
マイトトキシンの DEF および GHI 環部の統一的合成
日本化学会第 99 春季年会
8. Tohru Oishi
Structure Determination, Chemical Synthesis, and Evaluation of Biological Activity of Super Carbon Chain Natural Products
日本化学会第 99 春季年会

2017 年度

9. 大里 直哉, 當間 佳樹, 尾上 久晃, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
連続した核間メチル基を有する 6/7/6/6-四環性エーテルの収束的合成法
第 27 回万有福岡シンポジウム
10. 手嶋 博也, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
6/6/6/6/6-五環性梯子状ポリエーテルの新奇合成法の開発
第 54 回化学関連支部合同九州大会
11. Tohru Oishi
Structure-Activity Relationship Studies of Maitotoxin Based on Chemical Synthesis of Partial Structures
International Symposium on Pure & Applied Chemistry (ISPAC 2017)
12. Tohru Oishi
Structure-Activity Relationship Studies of Maitotoxin Based on Chemical Synthesis of Partial Structures
第 23 回日本化学会九州支部・韓国化学会釜山支部合同セミナー
13. 尾上 久晃, 石川 絵理奈, 丸林里帆, 此木敬一, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
化学合成に基づいたマイトトキシンの構造活性相関研究
第 59 回天然有機化合物討論会

14. Tohru Oishi
Structure-Activity Relationship Studies of Maitotoxin Based on Chemical Synthesis of Partial Structures
120th Korean Chemical Society (KCS) General Meeting & Exposition
15. Noaya Osato, Hisaaki Onoue, Yoshiki Toma, Kohei Torikai, Makoto Ebine and Tohru Oishi
Convergent Method for Synthesizing 6/7/6/6-Tetracyclic Ethers Possessing Contiguous Angular Methyl Groups
The 11th International Symposium on Integrated Synthesis (ISONIS-11)
16. Tohru Oishi
Structure-Activity Relationship Studies of Maitotoxin Based on Chemical Synthesis of Partial Structures
The First International Conference on Automated Flow and Microreactor Synthesis (ICAMS-1)
17. 安富 貴也, 薬師寺 宏幸, 鳥飼 浩平, 海老根 真琴, 大石 徹
マイトトキシンの DEF 環部の合成研究
日本化学会第 98 春季年会
18. Hisaaki Onoue, Naoya Ohsato, Kohei Torikai, Makoto Ebine, Keiichi Konoki, Tohru Oishi
Structure-Activity Relationship Studies of Maitotoxin Based on Chemical Synthesis
日本化学会第 98 春季年会

2016 年度

19. 大里直哉, 當間佳樹, 鳥飼浩平, 海老根真琴, 大石 徹
梯子状ポリエーテルの新奇二環構築型収束的合成法の開発
第 53 回化学関連支部合同九州大会
20. 山本大樹, 鳥飼浩平, 海老根真琴, 大石 徹
マイトトキシンの C'D'E'環部の合成研究
第 53 回化学関連支部合同九州大会
21. 神徳瑞生, 岸上隼大, 鳥飼浩平, 海老根真琴, 大石 徹
C-グリコピラノシドのフローマイクロ合成
第 53 回化学関連支部合同九州大会
22. 薬師寺宏幸, 久保卓也, 海老根真琴, 鳥飼浩平, 大石 徹
マイトトキシンの BCD および DEF 環部の合成研究
第 53 回化学関連支部合同九州大会
23. 大里直哉, 當間佳樹, 鳥飼浩平, 海老根真琴, 大石 徹
梯子状ポリエーテルの新奇二環構築型収束的合成法の開発
第 28 回若手研究者のためのセミナー
24. Tohru Oishi
Structure-Activity Relationship Studies of Maitotoxin Based on Chemical Synthesis of Partial Structures
ACP-2016-Korea
25. 山本大樹, 鳥飼浩平, 海老根真琴, 大石 徹
マイトトキシンの C'D'E'環部の合成研究
日本化学会第 97 春季年会

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.scc.kyushu-u.ac.jp/Seibutsuyuki/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：此木 敬一

ローマ字氏名：KONOKI Keiichi

所属研究機関名：東北大学
部局名：大学院農学研究科
職名：准教授
研究者番号（8桁）：40292825

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：鳥飼 浩平
ローマ字氏名：TORIKAI Kohei

研究協力者氏名：海老根 真琴
ローマ字氏名：EBINE Makoto

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。